云 南 植 物 研 究 1999, 21 (3): 317~322
Acta Botanica Yunnanica

黄檗的胚胎学研究

周庆源 靳晓白 母锡金
(中国科学院植物研究所，北京 100093)

摘要 黄檗（*Phellodendron amurense* Rupr.）为雌雄异株植物，雌花中有退化的雄蕊原基，雄花中有退化的心皮。黄檗花药壁发育为基本型。腺质绒毡层，细胞双核或多核。小孢子母细胞减数分裂为同时型。小孢子四分体为四面体型排列，成熟花粉有2-细胞和3-细胞型2种。子房5室，中轴胎座、倒生胚珠、具珠柄珠孔塞、双珠被、厚珠心和多孢原细胞。大孢子四分体为直线型、少数为"T"型排列，合点端的一个为功能性大孢子。蓼型胚囊，双受精属于有丝分裂前配子融合类型。胚的发育为藜型，核型胚乳。后期胚乳组织外层形成"次生胚乳"，原胚乳细胞逐渐退化解体。

关键词 黄檗，胚胎学
分类号 Q 944

Embryological Studies on *Phellodendron amurense*

ZHOU Qin-Yuan, JIN Xiao-Bai, MU Xi-Jin
(*Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093)

Abstract *Phellodendron amurense* Rupr. is a dioecious tree with abortive carpels in the staminate flower and abortive stamens in the pistillate flower. The anther wall conforms to the basic type. The tapetum, of which each cell contains 2 or more nuclei in the later stages, is the glandular type. The cytokinesis of the microspore mother cells in meiosis is the simultaneous type. The microspores are arranged in a tetrahedral tetrad. The mature pollen grains are of the 2-celled and 3-celled types. The ovary is 5-locular. The placentation is axile. The ovule is biteguminous, crassinucellate and anatropous. The female archesporium is multicellular. The megaspore tetrad is linear arrangement or occassionally T-shaped. The functional megaspore in the linear tetrad is the one at the chalazal end. The development of the embryo sac is the polygonum type. The double fertilization belongs to the premitotic type of syngamy. The embryo develops to conform the chenopodiad type. The endosperm develops to be the nuclear type. In the later stage , a secondary endosperm develops in the periphery of the endosperm , while the inner endosperm cells degenerate and disintegrate.

Key words *Phellodendron amurense*, Embryology

黄檗（*Phellodendron amuranse* Rupr.）又名关黄柏、黄波罗，为芸香科（Rutaceae）黄檗属（*Phellodendron* Rupr.）植物。黄檗为高大乔木，具有重要的经济和药用价值。它是

1998-08-11 收稿，1998-12-05 接受发表

第三纪古热带植物区系的孑遗植物，《中国植物红皮书》将其列为渐危种（傅立国等，1992)。黄檗为雌雄异株植物，单性花，但在雌雄花中分别有退化的雄蕊原基和退化的心皮。

关于芸香科植物胚胎学前人已做了大量工作。很多芸香科植物具有多胚现象。多胚的来源有3种（1）珠心多胚；（2）分裂多胚；（3）多配子体多胚（Bacchi，1943)。Starshova和Solntzeva（1973，1976）对黄檗的胚囊发育和受精过程作了初步研究。本文首次对黄檗胚胎学作系统而全面地报道。作者试图为芸香科植物胚胎学研究增添新的资料，同时也为探讨黄檗的致濒机制提供胚胎学方面参考。

1 材料与方法

实验材料采自中国科学院植物研究所北京植物园。取不同发育时期的花芽和花蕾。开花授粉后1~5 h取样。当子房或果实较大时，拨出胚珠。FAA固定液固定。常规石蜡法制片，切片厚8~12 μm。铁矾苏木精染色，固绿复染，部分材料采用爱氏苏木精整体染色。Olympus BH型光学显微镜下观察并照相。

为了扫描电镜观察，取不同时期的花，FAA固定，梯度酒精脱水，然后用酒精-乙酸乙戊酯逐级替换，直到100%乙酸乙戊酯。CO_2临界点干燥、离子溅射镀覆金膜。Hitachi S-800扫描电镜观察和照相。

2 观察结果

2.1 雄蕊的发生和发育

花芽发育早期，在花冠原基内侧分化出与花冠原基相间排列的5个小突起，即雄蕊原基。原基生长较快，不久即成为棒状或圆柱状。在雌花中，当心皮发育成横切面为较大的马蹄形，心皮原基的基部彼此间接近愈合时，雄蕊原基停止发育（图版I：1)。此时雄蕊没有花丝和花药分化。雌花发育成熟时，雄蕊退化成薄的鳞片状，贴靠子房壁。雄花的雄蕊原基则逐渐增大，向内弯曲生长，后来上部分化出花药，基部经居间生长，形成花丝。当花药发育成横切面为蝴蝶形时，在四角的表皮下，出现1~2列孢原细胞（图版Ⅰ：2)，将来分裂产生成熟的花药壁和花粉囊。

2.2 小孢子发生和雄配子体的形成

2.2.1 花药壁的发育 成熟的花药壁由5层细胞组成（图版Ⅰ：3)，由外向内依次是表皮、药室内壁、2层中层和绒毡层。花药壁的发育为基本型。花粉发育后期药室内壁细胞径向延长，并出现条带状增厚。中层退化较早。绒毡层为同型单起源绒毡层。小孢子母细胞减数分裂前后绒毡层细胞体积增加较快，原生质增多（图版Ⅰ：5)。中期I时，多数细胞具有2~3个核，核内常有多个核仁。从花药纵切面观察，花粉囊上下两端绒毡层细胞层次较多，为3~4层（图版Ⅰ：8)。四分体时期前后，绒毡层细胞开始退化，有的细胞间界限消失，细胞发生融合，在花粉囊周围逐渐形成一连续的原生质环。原生质环由宽变窄，逐渐消失（图版Ⅰ：9，10)。由于绒毡层细胞始终在原来的位置上，所以为分泌型绒

毡层。

2.2.2 小孢子发生和雄配子体形成 雄性孢原细胞平周分裂产生的初生造孢细胞，再经多次分裂形成数列次生造孢细胞。次生造孢细胞直接发育为小孢子母细胞。小孢子母细胞体积大、核大、细胞质浓。小孢子母细胞的胞质分裂为同时型（图版Ⅰ：5，6，7，8）。产生的四分体被共同的胼胝质壁包围，每个小孢子间也有胼胝质相隔，四分体为四面体型排列（图版Ⅰ：8）。不久胼胝质溶解，单核小孢子从四分体中释放出来（图版Ⅰ：9）。

不同花药或同一花药的不同花粉囊内减数分裂不同步；甚至在同一花粉囊内有些时期也不同步，有时相差1~3个时期，一般花粉囊上端减数分裂较前。

小孢子单核靠边期时间较长。然后核进行一次不等分裂，产生贴近壁的呈凸透镜状的生殖细胞和较大的营养细胞（图版Ⅱ：9）。不久生殖细胞进入营养细胞内。散粉的花粉大多为2-细胞，也有少数为3-细胞（图版Ⅱ：10）。通过扫描电镜观察，成熟花粉粒有3个萌发沟孔（图版Ⅱ：1），在萌发孔处花粉内壁向外形成乳头状突起（图版Ⅱ：4）。花粉外壁有网状纹饰，网眼内有瘤状突起（图版Ⅱ：1）。

2.3 雌蕊和胚珠的发育

黄檗具有5心皮。雄花的心皮原基分化后，不断生长，后来心皮边缘也发生内卷，但未闭合即停止生长而逐渐退化（图版Ⅱ：5）。退化前，心皮尚无胎座和胚珠的分化。后期退化心皮外侧表面产生许多柔毛。

雌花具5个子房室，中轴胎座。每室1个偶尔2个胚珠。花柱上粗下细，有较深的纵沟。每个心皮形成的花柱中央具引导组织。柱头表面为乳头细胞。

胚珠倒生，厚珠心，双珠被，“之”形珠孔。在大孢子母细胞时期，在珠柄一侧形成一个小突起，突起不断向珠孔端生长，发育为珠柄珠孔塞（图版Ⅰ：11）。胚囊成熟时，珠孔塞覆盖在珠孔上方（图版Ⅰ：12）。成熟珠孔塞的表皮细胞较内层细胞小，且核较大，富含细胞质（图版Ⅱ：2）。推测珠孔塞可能具有“花粉管桥”和为花粉管生长提供营养和引导作用（玛海希瓦里，1966）。

2.4 大孢子发生及雌配子体的形成

2.4.1 大孢子发生 在珠心表皮细胞下，分化出孢原细胞，一个珠心内可分化出4~6个或更多的孢原细胞。孢原细胞平周分裂产生周缘细胞和造孢细胞。往往只有一个造孢细胞发育为正常的大孢子母细胞。周缘细胞多次分裂，产生较厚的珠心，将大孢子母细胞推到珠心中央（图版Ⅱ：3）。大孢子母细胞减数分裂产生大孢子四分体，四分体主要呈线形排列，但也观察到“T”形四分体的存在（图版Ⅱ：4，6）。四分体合点端的一个为功能性大孢子，其它3个退化（图版Ⅱ：4）。

2.4.2 胚囊的形成 功能性大孢子体积增大，细胞纵向延长，细胞质液泡化，核位于珠孔端。不久进行第一次有丝分裂，形成两核，并移向两端，中央形成一个大液泡（图版Ⅱ：11）；两核各自又进行一次分裂，产生4核胚囊（图版Ⅱ：7）；再经一次分裂产生8-核胚囊（图版Ⅱ：12）。成熟的胚囊，合点端为3个反足细胞，珠孔端为2个助细胞和1个卵细胞，胚囊中央有2个并列极核。胚囊的发育方式为蓼型。卵器呈倒品字形排列。早期助细胞无液泡（图版Ⅱ：13），以后合点端形成一个大的液泡，核位于珠孔端。成熟卵细胞呈倒梨形，稍离珠孔端，细胞质很少，核位于合点端。卵器成熟时，卵核较助细胞核

小（图版Ⅱ：8)。2个极核大小相等，3个反足细胞中有1个或2个呈三角形。

2.5 受精作用

花粉在柱头上约需2~3 h萌发（图版Ⅲ：1)。花粉管中的2个精子呈蝌蚪状（图版Ⅲ：2)。花粉管可能通过引导组织进入胚囊，并在助细胞内释放内容物；精子从助细胞移动到卵核旁，并与卵核接触，此时精子变成椭圆形（图版Ⅲ：3)，以后接触面逐渐增大，以至于完全贴附在卵核表面（图版Ⅲ：4)。精子与卵核膜的接触时间较长，最后精核物质进入卵核内（图版Ⅲ：5)。雄性核仁在卵核内出现较早，而且开始较小，后来逐渐增大(图版Ⅲ：6)。最后雌雄性核仁相互靠拢并融合为一个大的核仁（图版Ⅲ：7)。花粉管到达胚囊前后，两个极核发生融合，形成一个大的次生核。次生核长椭圆形，核仁大。精子与次生核的融合较与卵细胞的快，本文未观察到其融合的全部过程。从精卵细胞的融合看，黄檗受精过程属于有丝分裂前配子融合类型。

2.6 胚乳和胚的发育

2.6.1 胚乳的发育　次生胚乳核与一个精子融合后，形成初生胚乳核（图版Ⅲ：13)。有丝分裂前，初生胚乳核向合点端移动。受精后的一天内，在靠近合点端部位进行第一次分裂，形成2个游离核，此后游离核继续旺盛分裂。随着游离核增多和胚囊液泡的扩大，游离核被挤到胚囊周缘（图版Ⅲ：15)。游离核早期合点端核较多，且稍大。球形胚时期，游离核胚乳首先在珠孔端产生细胞壁。游离核细胞化从珠孔端向合点端，从胚囊周围向中心逐渐推近。

在球形胚后期，胚乳组织的外层细胞进行平周分裂，产生另一种形态的胚乳细胞，开始细胞较小，富含细胞质，其形态与原胚乳细胞有较大差别。这些细胞首先在合点端的一个部位产生，并逐渐向珠孔端推进。不久形成多层细胞（图版Ⅲ：16)。这种后来形成的外层胚乳，有人称之为“次生胚乳”(李淑久等，1987)。内部胚乳细胞逐渐解体，最后完全消失。成熟种子的胚乳有3~11层细胞，细胞大形，内含许多颗粒状贮藏物。

2.6.2 胚的发育　合子的休眠期较长，一般在授粉后约8~10 d才进行第一次分裂，分裂前合子原生质增多（图版Ⅲ：8)。合子的第一次分裂是横向的，结果产生一个顶细胞和一个基细胞（图版Ⅲ：9)。顶细胞和基细胞大小相近，二者细胞核均较大。基细胞连续分裂形成胚柄，胚柄上部部分细胞参与胚的形成。顶细胞第一次为横向分裂，产生上下2个细胞，下部一个细胞又进行一次纵向分裂，形成3-细胞原胚（图版Ⅲ：10)。不久形成棒状胚，授粉后3~4周内形成球形胚（图版Ⅲ：11)。40~50 d内形成2-子叶的成熟胚(图版Ⅲ：12)。黄檗胚的发育类型为藜型。

3 讨论

黄檗花药壁发育为基本型、腺质绒毡层、小孢子母细胞减数分裂同时型、胚珠倒生、双珠被、厚珠心、雌性多孢原细胞、线型或T形大孢子四分体、蓼型胚囊、核型胚乳等，符合已知的芸香科植物胚胎学的一般特征（Johri *et al*，1992)。但黄檗存在珠孔塞和次生胚乳，在其它芸香科植物未见报道。

Starshova和Solntzeva（1973）认为，在不良气候条件下，黄檗可由雌性多孢原细胞或

珠心细胞产生增补胚囊或副胚囊，并由多配子体产生多胚。本研究通过大量切片观察，并未发现增补胚囊或副胚囊，也未见到多胚现象。作者认为，或许根本不存在增补胚囊或副胚囊，或许因为北京地区并不具备他们所述的不良气候条件。

Starshova 和 Solntzeva（1976）认为黄檗的受精过程属于中间型，并提出中间类型所具有的 5 个特征。本文作者认为，黄檗受精作用并非中间型，它符合有丝分裂前配子融合类型（胡适宜等，1979）。

黄檗存在珠孔塞，从其位置形态上看，可能象是花粉管进入珠孔的桥梁；从其表层细胞特征看，对花粉管生长可能又兼有营养或向化性功能。一些作者在桃、梅和铃兰等植物也发现有珠孔塞，但他们所观察的珠孔塞的起源并不相同（Herrero *et al*，1989；徐汉卿等，1995；饶广远等，1995）。黄檗的珠孔塞是由珠柄细胞发育而来。

球形胚后期，胚乳外层细胞平周分裂产生另一种形态的胚乳细胞，原胚乳细胞则逐渐解体消失。新产生的胚乳细胞发育为成熟的胚乳组织，成熟的胚乳组织细胞含有大量的颗粒状贮藏物。在禾本科植物，胚乳的周缘层具有类似形成层的作用，向内产生一系列薄壁细胞（玛海希瓦里，1966）。黄檗胚乳的表层细胞好象也具有类似形成层的作用。李淑久等（1987）也在刺梨中观察到这种情况。禾本科植物后来产生的胚乳中有糊粉层细胞，刺梨次生胚乳细胞中也富含蛋白质粒。黄檗含有的许多颗粒状物质是否为蛋白质，将有待分析。

参考文献

李淑久，胡适宜，1987. 刺梨胚及胚乳的发育. 植物学报，**29**（4）：347～353

玛海希瓦里著，陈机译，1966. 被子植物胚胎学引论. 北京：科学出版社 187～188；255

饶广远，潘开玉，洪德元，1995. 铃兰的胚胎学研究. 植物学报，**37**（12）：963～968

胡适宜，朱澂，1979. 高等植物受精作用中雄性核和雌性核的融合. 植物学报，**21**：1～10

徐汉卿，王庆亚，胡金良等，1995. 梅雌蕊发育和受精作用的研究. 云南植物研究，**17**（1）：61～66

傅立国，金鉴明. 1992. 中国植物红皮书——稀有濒危植物（第一册）. 北京：科学出版社

Bacchi O, 1943. Cytological observations in *Citrus* II. Megasporogenesis, fertilization, endosperm and polyembryony. *Bot Gaz*, **105**: 221～225

Herrero M, Arbeloa A, 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *Amer J Bot*, **76**(10): 1441～1447

Johri B M, Ambegaoko K B, Srivatava P S, 1992. Comparative embryology of angiosperms. Vol. 2. 439～440

Starshova N P, Solntzeva M P, 1973. Embryo sac chracteristics of *Phellodendron amurense* Rupr. *Bot ZH* (Leninggr), **58**: 1644～1654

Starshova N P, Solntzeva M P, 1976. The process of fertilization in *Phellodendron amurense* Rupr. *Dokl akad nauk SSSR*, **228**: 1485～1488

图版说明

ANT 反足细胞　Ca 心皮　DSM 退化雄蕊　DSY 退化助细胞　E 卵细胞　FM 功能性大孢子　MC 大孢子母细胞　PN 极核　Ob 珠孔塞　Tp 绒毡层

图版 I 1. 雌花的 5 个心皮和退化雄蕊原基。×66　2. 幼小花药中的 2 个孢原细胞。×660　3. 次生造孢细胞和分化完全的药壁。×132　4. 显示萌发孔处的乳头状突起。×1800　5. 小孢子母细胞减数分裂前期 I。×660　6. 小孢子母细

胞减数分裂末期Ⅰ。×660 7. 小孢子母细胞减数分裂末期Ⅱ。×660 8. 四面体型小孢子四分体和花药室纵向一端的绒毡层。×264 9. 单核小孢子和绒毡层细胞间融合。×264 10. 后期的单核小孢子。×264 11. 四分体时期珠孔塞。×66 12. 八核胚囊时期的珠孔塞 ×66

图版Ⅱ 1. 花粉具3个萌发沟孔、网状纹饰和瘤状突起。×2100 2. 显示成熟珠孔塞的表层细胞。×660 3. 显示厚珠心和大孢子母细胞。×660 4. 线性大孢子四分体。×660 5. 雄花中的5个退化心皮。×78 6. T形大孢子四分体。×660 7. 四核胚囊时期。×660 8. 卵细胞和一个助细胞。×660 9. 刚形成的生殖细胞和营养细胞。×660 10. 3-细胞花粉 ×660 11. 2核胚囊。×660 12. 八核胚囊时期。×264 13. 显示早期的2个助细胞。×660

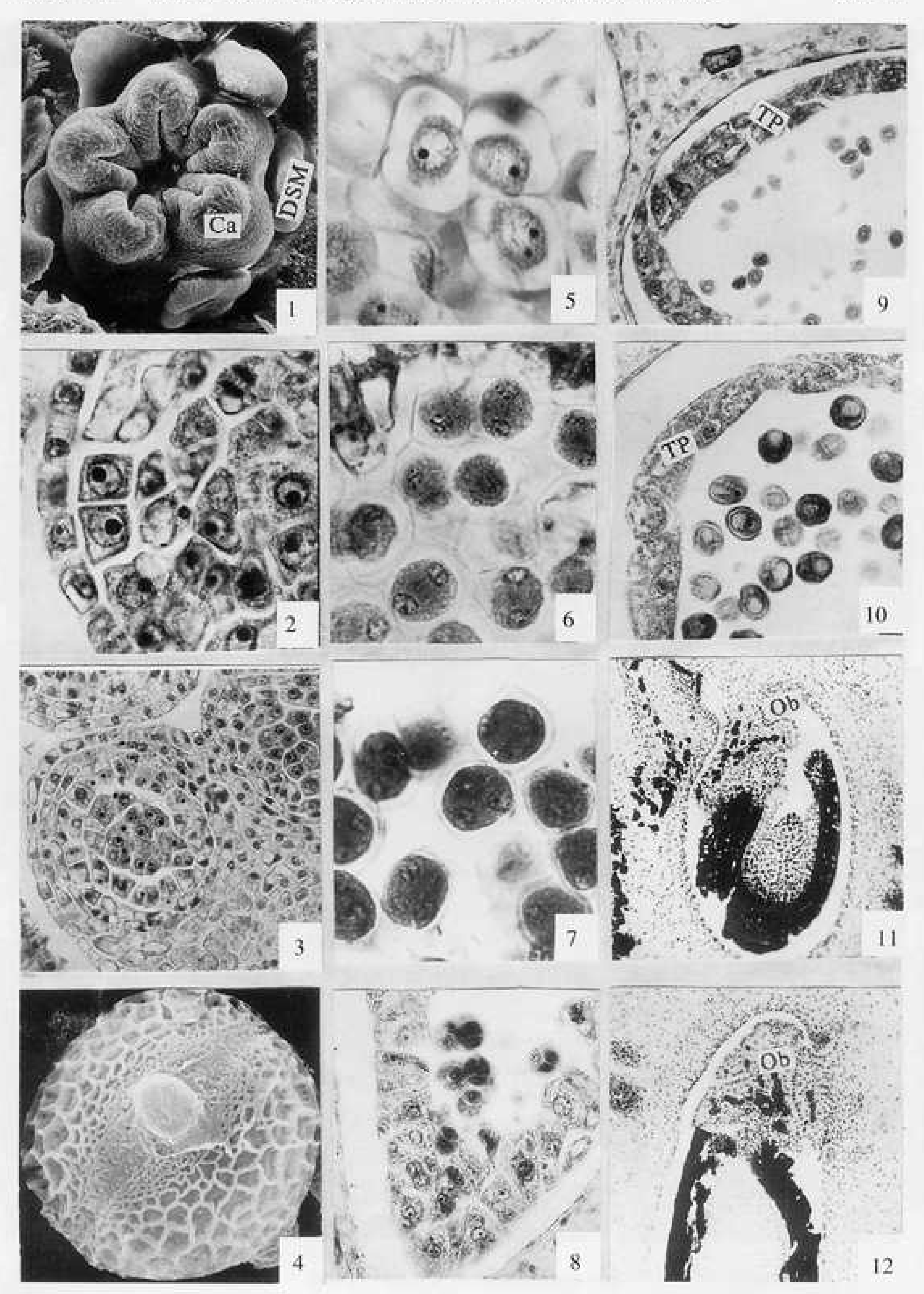
图版Ⅲ 1. 花粉在柱头上萌发产生花粉管。×264 2. 显示花粉管内的2个精子。×660 3. 精核和卵核部分接触。×660 4. 精核完全贴在卵核上，旁边为一个退化助细胞。×660 5. 精核物质进入卵核内。×660 6. 合子内一个雄性核仁和雌性核仁。×660 7. 雌雄核仁融合成一个大的核仁。×660 8. 分裂前的合子。×660 9. 顶细胞和基细胞。×660 10. 显示3-细胞原胚。×660 11. 球形原胚。×264 12. 成熟胚。×26.4 13. 初生胚乳核。×660 14. 初生胚乳核分裂后期。×660 15. 胚乳游离核 ×264 16. 早期次生胚乳。×264

Explanation of Plates

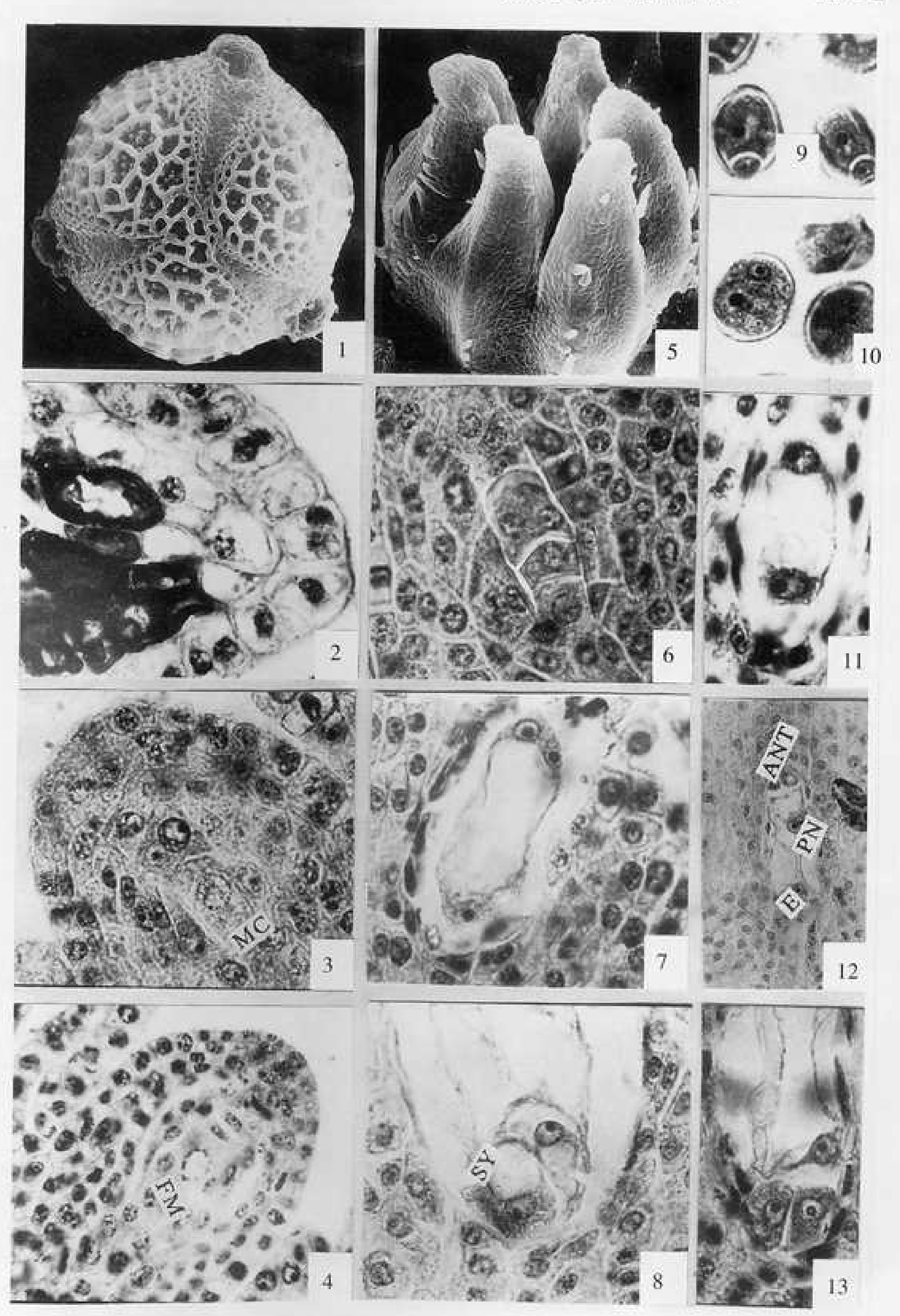
Plate Ⅰ 1. The 5 carpels and degerated staminate primordia of pistillate flower. ×66 2. 2 archesporial cells of the young anther. ×660 3. Secondary sporogenous cells surrounded by completely formed anther wall. ×132 4. Showing papillate outgrowths through the germ pores. ×1800 5. Prophase I of meiosis of microspore mother cells. ×660 6. Telophase I of meiosis of microspore mother cells. ×660 7. Telophase II of meiosis of the microspore mother cells. ×660 8. The tetrahedral microspore tetrad and tapetal cells at one end of the anther locule. ×264 9. Earlier uninucleate microspores and the fusion between tapetal cells. ×264 10. Later uninucleate microspores. ×264 11. Showing the obturator at stage of megaspore tetrad. ×66 12. The obturator at the stage of 8-nucleate embryo sac. ×66

Plate Ⅱ 1. Showing the mature pollen grain with having 3-colpate. reticulate and verrucate features. ×2100 2. The epidermal cells of mature obturaor. ×660 3~4. Linear measpore tetrad. ×660 5. The 5 degenerateed carpels of staiminate flower. ×78 6. T-shaped megaspore tetrad. ×660 7. The 4-nucleate embryo sac stage. ×660 8. Egg cell and one synergid. ×66 9. The newly formed generative cell and vegetative cell. ×660 10. A 3-celled pollen grain. ×660 11. The 2-nucleate embryo sac. ×660 12. The 8-nucleate embryo sac stage. ×264 13. Synergids at early stage. ×660

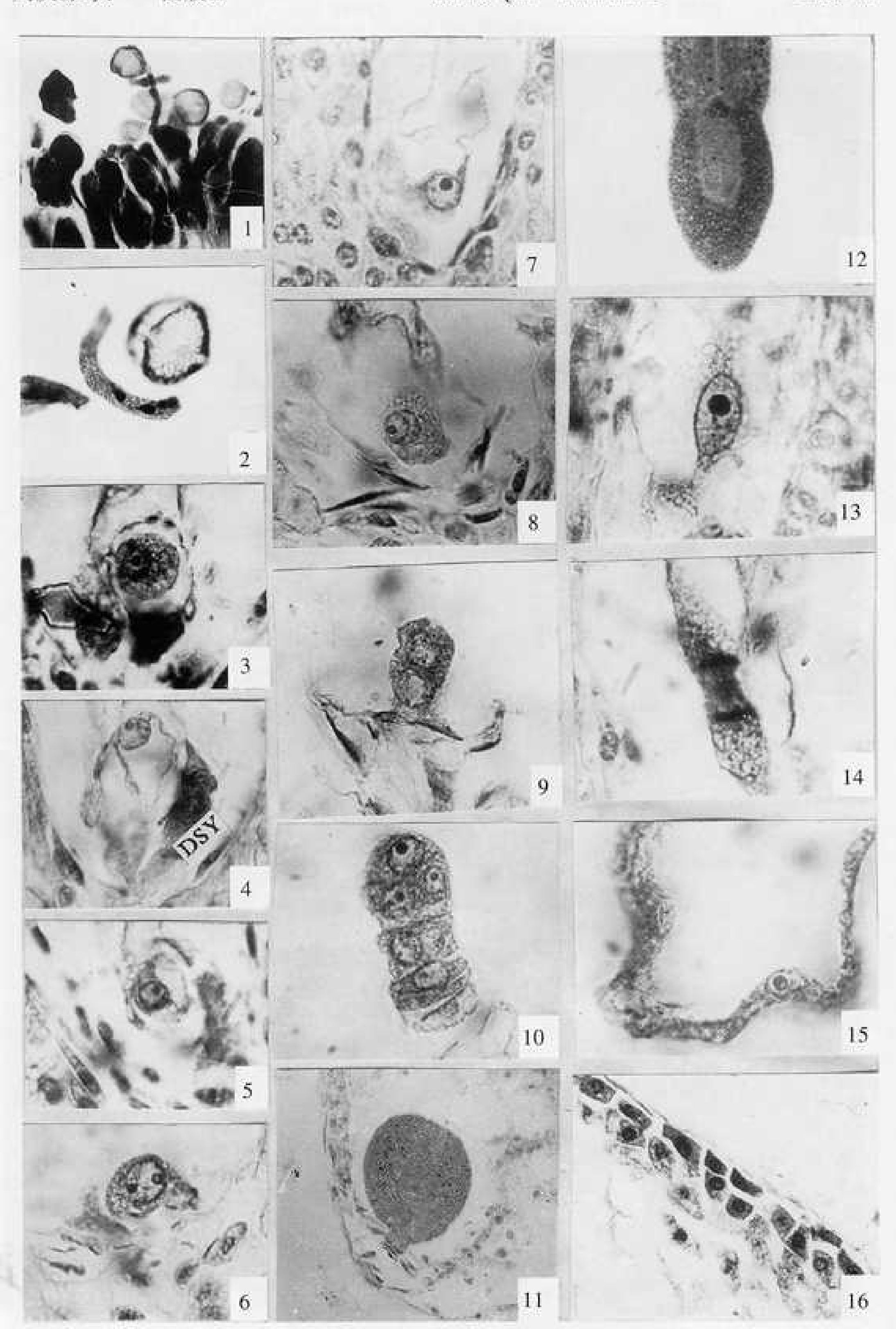
Plate Ⅲ 1. A pollen grain germinating on stigma to form a long pollen tube. ×264 2. The 2 perms in the pollen tube. ×660 3. The sperm nucleus in partial contact with the egg nucleus. ×660 4. The sperm nucleus in total contact with the egg nucleus with a degenerated synergid beside them. ×660 5. The contents of sperm nucleus entering the egg nucleus. ×660 6. The male nucleolus and the female nucleolus in zygote. ×660 7. Fusion of the male nucleolus and the female nucleolus forming a large nucleolus. ×660 8. The zygote before division. ×660 9. The apical cell and basal cell. ×660 10. Showing 3-celled proembryo. ×660 11. Globular proembryo. ×264 12. The mature embryo ×26.4 13. The primary endosperm nucleus. ×660 14. Anaphase of mitotic division of primary endosperm nucleus. ×660 15. The free-nuclear endosperm. ×264 16. The earlier secondary endosperm. ×264



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text